

PCT/HU03/00065

PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)



REC'D 15 SEP 2003
WIPO PCT

MAGYAR KÖZTÁRSASÁG

ELSŐBBSÉGI TANÚSÍTVÁNY

Ügyszám: P0202638

A Magyar Szabadalmi Hivatal tanúsítja, hogy

dr. Hidvégi Máté, Budapest,
Resetár Ákos, Budapest,

Magyarországon

2002. 08. 09. napján 33675/02 iktatószám alatt,

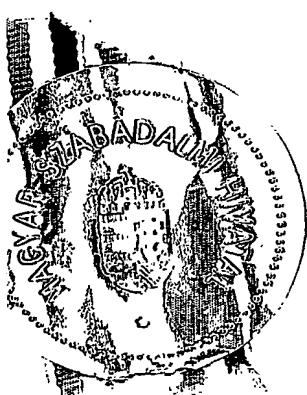
Fermentált búzacsíra-kivonat alkalmazása gyulladáscsökkentőként
című találmányt jelentett be szabadalmazásra.

Az idefűzött másolat a bejelentéssel egyidejűleg benyújtott melléklettel mindenben
megegyezik.

Budapest, 2003. év 08. hó 26. napján

Szabó Emilia
A kiadmány hiteléül: Szabó Emilia osztályvezető-helyettes

The Hungarian Patent Office certifies in this priority certificate that the said applicant(s) filed a patent application at the specified date under the indicated title, application number and registration number. The attached photocopy is a true copy of specification filed with the application.



BEST AVAILABLE COPY

102 2638

ELSÖBBSÉGI PÉLDÁNY

75.153/LZS

2002-08-09

Fermentált búzacsíra kivonat alkalmazása gyulladáscsökkentőként
KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

A találmány fermentált búzacsíra kivonat,kereskedelmi néven Avemar® új terápiás alkalmazására vonatkozik, közelebbről gyulladáscsökkentőként, elsősorban izületi gyulladásos állapotok (arthritis) kezelésére vagy megelőzésére vagy csökkentésére alkalmas gyógyszerkészítmények előállítására.

Az Avemar (a továbbiakban ezen a néven emlíjtük) előállítását, immunstimuláns és metasztázisgátló hatását a WO 99/08694 sz. közzétételi iratban (P9801797 sz. magyar szabadalmi bejelentés megfelelője) ismertetik. Ezt az anyagot vizes közegben a búzacsíra *Saccharomyces cerevisiae*-vel történő fermentálásával, majd a szűrt fermentlé beszárításával állítják elő. A kapott anyagot 2,6-dimetoxi-p-benzokinon tartalmával jellemzik, amely körülbelül 0,4 mg/g száraz anyag.

Vizsgálataink során meglepő módon azt találtuk, hogy az Avemar alkalmazható gyulladásos megbetegedések, különösen reumatoid artritisz kezelésére vagy megelőzésére emlősökben, ezen belül emberekben.

Az artritisz számos gyulladásos izületi betegség, például reumatoid artritisz, bakteriális artritisz, reaktív artritisz, stb. összefoglaló neve. A reumatoid artritisz magában foglalja a nem-bakteriális állapotok nagy csoportját, melynek legfontosabb tünete az izületek gyulladása és deformálódása. A klasszikus reumatoid artritisz normális esetben számos izületet érint (poliartritisz), de korlátozódhat egy izületre is (monoartritisz). Az izületi porc megtámadása csak egyike a számos porcot

és csontot deformáló és az izületi működést leromboló faktornak. Ebben a betegségben az izületi tok, szalagok és a csontszövet is érintett. Az esetek többésgben a betegséget változó lefolyás jellemzi, az egész életet végigkísérő súlyosbodási és javulási periódusokkal, az izületek deformálódása és a szisztemás rokkantság azonban állandóan rosszabbodik. A betegeknek csak körülbelül 10%-a gyógyul spontán.

A jelenlegi kezelési módszerek a fájdalom enyhítésére és a tünetek mérséklésére irányulnak, magára a betegségre jelenleg nincs gyógymód. A legtöbb ismert kezelési módszerben gyulladás-csökkentő szereket, például szteroidokat (prednizolon, dexametazon), nem-szteroid jellegű gyulladáscsökkentőket (NSAID-k), a betegsére ható reumaellenes szereket (DMARD-k) használnak. Az NSAID kategóriába tartoznak a szalicilátok, az ibuprofen, fenoprofen, naproxen, piroxicam, tolmetin, indometacin és mások, mint pl. a ciklooxygenáz enzim inhibitorok. Ezekre a kemoterápiás szerekre a kis hatékonyság és magas toxicitás jellemző.

A DMARD vagy SAAR (elhúzódó hatású reumaellenes szerek) csoportjába tartoznak a D-penicillinamin, az arany-sók, a klorokin, az azatioprin, a metotrexát és a ciklofoszfamid. Jelentős toxicitásuk következtében ezeket a szereket általában csak másodsorban választják az orvosok, ha a beteg kevésbé jól reagál az NSAID szerekre. Rendszerint ezeket a szereket az NSAID-szerekkel kombinálva alkalmazzák.

Újabb nem-szteroid gyulladáscsökkentő hatóanyagokat is fejlesztettek a reumatoid artritisz kezelésére. Ilyenek például a gamma-interferon, interleukin-6 antagonisták, ciklosporin,

PAF-antagonisták, az eikozapentánsav (EPA), szomatosztatin-analógok, peptid-származékok és immunmodulátorok.

A 203044 ljsz. magyar szabadalmi leírásban olyan gyógyszerkészítményt ismertetnek izületi gyulladások csökkentésére, melynek hatóanyaga egy gyógynövény-kivonat.

A nagyszámú, jelenleg rendelkezésre álló gyógyszer ellenére számos beteg állapotának javítása nehézségekbe ütközik vagy nem lehetséges gyógyszeres kezeléssel. Továbbá a reumatoid artritisznek nincs megelőző módszere.

Ezért továbbra is fennáll az igény új-típusú reumaellenes szerek iránt, melyek kevésbé toxikusak, kevesebb mellékhatással rendelkeznek, és alkalmasak a reumatoid artritisz tüneteinek megszüntetésére, enyhítésére és megelőzésére. Olyan új szerekre van szükség, melyek elnyomják (szupresszálják) vagy csökkentik a gyulladást, a duzzanatokat, az abnormális új érképződést (neovascularization), a csont eróziót vagy izületek erózióját, és emellett jól elviselhetők.

Ezért megvizsgáltuk az Avemar hatását patkányban kiváltható adjuváns artritiszben (AA), amely a humán reumatoid artritisz (RA) egyik leggyakrabban alkalmazott kísérletes modellje. Az adjuváns artiritiszről megállapították, hogy e folyamat számos tulajdonságában egyezik a humán reumatoid artritisszel, ezért kiválóan alkalmazható vegyületek szűrésére. A farmakológusok ezt a krónikus gyulladásos modellt alkalmazzák leginkább farmakonok gyulladáscsökkentő és immunszuppresszív hatásának vizsgálatára.

Patkányban az AA kifejlődésének ideje és mértéke számos tényezőtől függ, így a kiváltó ágenstől és dózisától, az

injiciálás helyétől, a kísérleti patkány törzstől, stb. Az injiciált lábon az akut gyulladásos reakció (ún. elsődleges válasz) a beadást követő 24 órán belül megjelenik, s a mancs térfogata 4-5 napon át fokozatosan nő. Az alkalmazott patkány törzstől függően a 6. és 11. nap között a gyulladás mértéke állandósul (plato-effektus), majd a reakció intenzitása tovább fokozódik. A nem-injiciált lábon is kialakul gyulladásos reakció (ún. másodlagos vagy immun-közvetített válasz) az injiciálást követő 10-12. napon. A gyulladásos reakció vagyis lábtérfogat mind a kezelt mind a kezeletlen lábon a gyulladáskeltő ágens beadása utáni 18-21. napon éri el a maximumot.

Az alábbiakban röviden ismertetjük az ábrákat:

1. ábra: 22 napos Avemar p.o. kezelés hatása AA-ra
(injiciált láb)
2. ábra: 22 napos Avemar p.o. kezelés hatása AA-ra
(nem-injiciált láb)
3. ábra: 22 napos Avemar p.o. kezelés hatása AA-ra a 14. napon
(injiciált láb)
4. ábra: 22 napos Avemar p.o. kezelés hatása AA-ra a 18. napon
(injiciált láb)
5. ábra: 22 napos Avemar p.o. kezelés hatása AA-ra a 22. napon
(injiciált láb)
6. ábra: 22 napos Avemar p.o. kezelés hatása AA-ra a 14. napon
(nem-injiciált láb)
7. ábra: 22 napos Avemar p.o. kezelés hatása AA-ra a 18. napon
(nem-injiciált láb)

8. ábra: 22 napos Avemar p.o. kezelés hatása AA-ra a 22. napon
(nem-injiciált láb)
9. ábra: 22 napos Avemar p.o. kezelés hatása patkányok testtöme-gére
10. ábra: 22 napos Avemar p.o. kezelés hatása patkányok testtöme-gére a 22. napon
11. ábra: 35 napos Avemar p.o. kezelés hatása AA-ra
(injiciált láb)
12. ábra: 35 napos Avemar p.o. kezelés hatása AA-ra
(nem-injiciált láb)
13. ábra: 35 napos Avemar p.o. kezelés hatása AA-ra a 28. napon
(injiciált láb)
14. ábra: 35 napos Avemar p.o. kezelés hatása AA-ra a 32. napon
(injiciált láb)
15. ábra: 35 napos Avemar p.o. kezelés hatása AA-ra a 35. napon
(injiciált láb)
16. ábra: 35 napos Avemar p.o. kezelés hatása AA-ra a 28. napon
(nem-injiciált láb)
17. ábra: 35 napos Avemar p.o. kezelés hatása AA-ra a 32. napon
(nem-injiciált láb)
18. ábra: 35 napos Avemar p.o. kezelés hatása AA-ra a 35. napon
(nem-injiciált láb)
19. ábra: 35 napos Avemar p.o. kezelés hatása patkányok testtöme-gére
20. ábra: 35 napos Avemar p.o. kezelés hatása patkányok testtöme-gére a 35. napon
21. ábra: Súlyos krónikus gyulladásos infiltráció kezeletlen AA

patkányok szinoviumában és e körüli szövetekben.

22. ábra: Sokmagvú óriás sejteket tartalmazó súlyos infiltráció kezeletlen AA patkányok szinoviumában

23. ábra: Mikrotályogok a kezeletlen AA patkány periartikuláris szövetében lévő gyulladásos infiltráció belül

24. ábra: CD4 pozitív limfociták kezeletlen AA patkány szinoviumában talált gyulladásos infiltrációban

25. ábra: Gyulladásos infiltráció hiánya Avemarral kezelt AA patkányok szinoviális és perisinoviális szövetében

Az Avemar hatása adjuváns artritiszre patkányokban

Kísérleteinkben Wistar-törzsű nőstény patkányokban váltottuk ki az adjuváns artritiszt oly módon, hogy az állatok hátsó jobb lábának talpbőre alá 0,1 ml 0,5%-os folyékony paraffinban szuszpendált és homogenizált, előlt Mycobacterium butyricumot (Difco) injiciáltunk. A kísérleti állatok kiindulási átlag testtömege a 22 napig kezelt csoportban 138 ± 5 g, illetve a 35 napig kezelt csoportban 118 ± 5 g volt. Az Avemar kezelés alatt mértük az állatok testtömegét, pletizmografiás módszerrel az injiciált jobb ill. a nem-injiciált bal láb térfogatát (az elsődleges és másodlagos reakció alakulását) 22 napos kísérleteinkben a 0., 1., 4., 7., 12., 14., 18. és 22. napon, 35 napos kísérleteknél pedig a 0., 3., 7., 11., 15., 18., 21., 25., 28., 32. és 35. napon. A gyulladásos reakciót az Avemar-kezelés megkezdése utáni 1. napon (22 napos vizsgálat) ill. a 14. napon (35 napos vizsgálat) váltottuk ki. Mind a kétféle vizsgálatban a következő kísérleti csoportokat ill. kezelésekkel alkalmaztuk: 1. Kontroll $2 \times 1,0$

ml/150 g (deszt. víz); 2. Avemar 2x2,5 g/kg/nap; 3. Avemar 2x1,0 g/kg/nap; 4. Avemar 2x0,25 g/kg/nap; 5. Avemar 2x0,05 g/kg/nap; 6. Indometacin 2x0,5 mg/kg/nap; 7. Dexametazon 2x0,05 mg/kg/nap.

Az Avemar (gyártó: Biromedicina Rt., Budapest) szuszpenziót és a dexametazon-oldatot desztillált vízzel készítettük ill. hígítottuk mindenkor közvetlenül a beadás előtt. A pozitív kontrollként alkalmazott indometacint (Chinoin Gyógyszer- és Vegyészeti Termékek Gyára) 0,5 %-os metilcellulóz nyákban szuszpendálva adtuk be. Az Avemar különböző napi adagjait ill. az indometacint és dexametazont (Organon) 1 ml/150 g testtömeg térfogatban adtuk be gyomorszonda segítségével olymódon, hogy a napi adag egyik felét reggel 8 óra és 10 óra között, a másik felét 16 és 18 óra között adtuk be. A kontroll csoport 1 ml/150 g desztillált vizet kapott.

Az eredmények statisztikai értékeléséhez egy-utas ANOVA variancia analizist alkalmaztunk.

Eredmények

A 22 napos kezeléssel kapott eredményeket az 1-10. ábrán, a 35 napos kezelés eredményeit pedig a 11-20. ábrán mutatjuk be. Az ábrákon a kapott csoport átlagértékeket tüntettük fel standard eltéréssel (\pm SEM) (a 22 napos kísérletekben $n = 14-15$, a 35 napos kísérletekben $n = 10-12$). Az oszlopdiagramok felett *-gal jelöltük a kontroll csoporthoz viszonyított szignifikancia szintet (* = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$).

Az eredményekből látható, hogy az Avemar dózis-függően szignifikáns mértékben gátolni képes patkányban mind a primer, mind a szekunder gyulladásos reakció kifejlődését, ami gyulladásgátló

hatását igazolja. Az Avemar dózis-függő módon, az indometacinhöz és dexametazonhoz hasonlóan, minimálisra csökkentette az adjuváns artritisz mértékét a kezelt patkányban. (Bár hatékony-sága elmarad a pozitív kontrollként alkalmazott indometacintól és dexametazontól, de jelentős mértékben képes gátolni az adjuváns artritiszt.) A 14 napos előkezelés során nem befolyásolja a lábak térfogatát, ami azt jelenti, hogy nem okoz generализált gyulladásos reakciót. Az előkezelés időtartamától függően gátolja az artritisz kifejlődését. Az Avemar előkezelés 22 illetve 35 napos kezelés során nem vagy csak kismértékben képes megnövelni az állatok testtömegét artritiszes patkányokban.

Hisztológiai vizsgálatok

A jobb hátsó talp megbetegített izületeit a csontok epifízi-seivel és a körülvevő rostos és izom-szövettel együtt semlegesre pufferolt 4%-os formalinban fixáltuk. A kalcium-mentesítést EDTA segítségével végeztük, és a mintákat paraffinba mártottuk. 8 µm vékony hosszanti metszeteket vágtunk, és a metszeteket megfestettük hemotoxilinnel (H) és eozinnal (E). A szelektált pozitív kontrollban és a kezelt esetekben immunperoxidázos reakciót végeztünk, hogy kimutassuk a CD4 és CD8 pozitív T-limfocitákat. Az alkalmazott antitest a Santa Cruz terméke volt (Santa Cruz, CA, USA), melyet 1:100 hígításban használtunk.

Az AA-ban szenvedő, kezeletlen kontroll patkányok izületeinek hisztológiai vizsgálata a szinovium (porc belhártya) és az ezt körülvevő (periszinoviális) szövetek súlyos gyulladásos el-változásait mutatta (21. ábra, H és E festés, 300x nagyítás). A

celluláris beszűrődés (infiltráció) limfocitákból, plazma sejtekből, hisztiocitákból, sokmagvas óriás sejtekből és fibroblasztokból állt (22. ábra, H és E festés, x300). A gyulladásos beszűrődések belül a neutrofil granulociták által formált mikrotályogokat is megfigyeltünk (23. ábra, H és E festés, x300). A limfociták többsége CD4 pozitívnak bizonyult az AA patkányok gyulladásos infiltrátumában (24. ábra, CD4 immunperoxidáz).

A 2x1,0 vagy 2x2,5 g/kg/nap Avemarral kezelt patkányok izületei semmilyen vagy minimális gyulladásos infiltrációt mutattak. A szinoviális és perisinoviális sejtekben a CD4 pozitív limfociták beszűrődése majdnem teljesen eltűnt és a fibrózis minimálisra csökkent az Avemar kezelés hatására (25. ábra, H és E festés, x300). Hasonló eredményeket találtunk a pozitív kontrollként használt indometacinnal és dexametazonnal kezelt állatokban. A gyulladásos infiltráció fokának szemi-kvantitatív becslését a különböző csoportokban az 1. táblázatban mutatjuk be. Nem volt szignifikáns különbség a 24 órás és 14 napos előkezelést kapott csoportok között.

1. táblázat

Gyulladásos infiltrátumok szemi-kvantitatív hisztológiai minősítése kezeletlen és Avemarral, valamint indometacinnal vagy dexametazonnal kezelt AA patkányokban

Kezelés	Hisztológiai fokozat (átlagos 1-3)	
	24 órás előkezelés	14 napos előkezelés
Kontroll	2,8	2,2

2x2,5 g/kg/nap Avemar	1,6	1,4
2x1,0 g/kg/nap Avemar	1,0	1,2
2x0,25 g/kg/nap Avemar	2,4	2,6
2x0,05 g/kg/nap Avemar	2,6	2,6
2x0,5 mg/kg/nap Indometacin	1,0	1,2
2x0,05 mg/kg/nap Dexametazon	1,4	1,2

A hisztológiai vizsgálatok tehát egyértelműen az Avemar gyulladáscsökkentő hatását támasztják alá.

Ezen eredmények alapján feltételezhető, hogy az Avemar megfelelő adagolásával gátolható emberben a reumatoid artritisz ki-fejlődése.

A GLP (Good Laboratory Practice) körülmények között elvégzett akut és szubakut toxicitási vizsgálatok azt mutatják, hogy az Avemar - eltérően a szteroid és nem-szteroid gyulladáscsökkentő vegyületektől - nem okoz semmilyen toxikus hatást, beleértve az erózív gaszritiszt és akut gyomorfekélyt (Report. Acute oral toxicity study of Avemar in mice. Code: 9901. Univ. Vet. Sci., Dept. Pharmacol. Toxicol., Budapest, 1999; Acute oral toxicity study of Avemar in rats. Code: 9902. Univ. Vet. Sci., Dept. Pharmacol. Toxicol., Budapest, 1999; Subacute oral toxicity study of Avemar. Code: 0001. Univ. Vet. Sci., Dept. Pharmacol. Toxicol., Budapest, 2000).

Továbbá a készítmény nem volt genotoxikus patkány csontvelői mikronukleusz tesztben.

A kapott kísérletes eredmények alapján feltételeztük, hogy az Avemar alkalmas eszköz lehet a reumatoid artritisz kezelésé-

hez emberekben. Egyéb immunpatológiai betegségek szintén szóba jöhetnek ebben a vonatkozásban.

Az Avemar hatása humán reumatoid artritiszre

Az Országos Reumatológiai és Fizikoterápiás Intézet (Budapest) IV. reumatológiai osztályán bizonyított reumatoid artritiszben szenvedő, terápiarezisztens betegeket kezeltünk Avemarral. A nyílt, önkontrollos klinikai vizsgálatnak az Avemar hatékonyságának, tolerálhatóságának, mellékhatásainak megítélése volt a célja. Az alábbiakban 15 beteg 1 éves kezelésének tapasztalairól számolunk be.

A. A betegek kiválasztása:

A vizsgálatban 15 olyan, az ACR klasszifikációs kritériuma alapján biztosan RA-ban szenvedő, Steinbrocker II-III anatómiai stádiumba sorolható járóbeteg vett részt, akik RA-ja az Avemar kezelés elkezdése előtt beállított terápia mellett 3 hónapja stagnált vagy romlott. A betegek beleegyezésüket adták a vizsgálatban való részvételhez.

B. A kizárási kritériumai:

- 18 évnél fiatalabb és 80 évnél idősebb életkor
- súlyos máj-, szív-, vese- és vérképzőszervi betegség
- aktív gyomorfekély betegség
- pszichiátriai betegség, szellemi elmaradottság
- az együttműködés hiánya
- graviditás vagy laktáció.

A szer hatástalansága esetén, azaz ha a várt javulás 3 hónap elteltével sem jelentkezik, a szer adását felfüggesztjük.

C. A vizsgálat menete:

A 15 RA-s beteg az eredeti gyógyszeres kezelés (bázisterápia, szteroid és NSAID) mellett napi 2 x 9 g vízoldékony, granulált Avemart szedett (reggel 9 g-ot és este 9 g-ot). A vizsgálat megkezdésekor és havonta ellenőriztük a betegeket, statisztikai értékelésük a 6. és 12. hónapban történt.

D. A vizsgálat paraméterei:

A vizsgálat klinikai paraméterei a következők voltak:

- Ritchie-index
- HAQ (Health Assessment Questionary)
- reggeli izületi merevség időtartama órában
- súlyedés
- CRP
- hematokrit érték.

A vizsgálat során rögzítettük az alkalmazott szteroid dózis változását is. A vizsgálatban résztvevő 15 RA-s nőbeteg átlagos életkora 54,5 év (44-68 év), betegségtartamuk átlagosan 8 év (3-25 év), egyikük kivételével mindenki szeropozitív volt. A vizsgálat kezdetén a betegek közül 10-en szedtek bázisterápiás szert: 1 beteg sulfasalazint (Salazopyrin), 5 beteg metotrexátot (Methotrexat, Lachema), 3 beteg ciklosporint (Sandimmun, Neoral) és beteg klorokint (chloroquin, Delagil). 5 beteg nem kapott bázisterápiát, részint, mert a korábban alkalmazott bázisterápiás szerek nem bizonyultak hatékonynak illetve mellékhatásokat okoztak. A vizsgálat kezdetén szteroidot 11 beteg szedett. Ekkor az orális szteroid legmagasabb adagja 7,5-10 mg prednizolon vagy ekvivelens dózisú metil-prednizolon illetve dexametazon volt. A betegek adatait a 2. táblázatban tüntettük fel.

2.Táblázat: Az Avemar kezelésben részesültő betegek kiindulási adatai

Sor-szám	Kor (év)	Betegség-tartam (év)	Stein-brocker stádium	Sülyedés (mm/h)	CRP	HCT L/L	Ritchie index	Reggeli fiziletű merev-ség idő-tartama órában	HAQ	Steroid dózis/ nap	Bázis-terápia
1	53	9	3	54	8	0,36	36	0	1,7	6M	12,5 mg MTX
2	68	7	3	70	17	0,33	40	5	1,6	2M	-
3	62	12	3	40	5	0,35	28	3	1,0	0,8D	-
4	54	5	3	76	30	0,38	34	2	2,1	-	2 g S
5	50	25	2	36	10	0,35	24	2,5	2,1	-	-
6	44	5	3	46	10	0,31	20	1	1,2	10P	7,5 mg MTX
7	68	3	3	24	6	0,4	4	1,5	1,1	-	-
8	50	3	2	20	5	0,3	10	1	0,8	4T	7,5 mg MTX
9	58	5	2	90	18	0,31	20	2,5	1,1	10P	-
10	44	4	2	36	11	0,38	11	1,5	0,6	5P	175 mg C
11	50	6	3	18	6	0,33	10	1	0,8	4M	250 mg Ch
12	60	5	3	93	106	0,37	26	5	2,6	6M	200 mg C
13	48	5	2	84	182	0,37	32	6	1,8	6M	225 mg C
14	50	25	3	40	16	0,36	24	0	1,6	4M	12,5 mg MTX
15	58	4	2	56	14	0,38	12	1,5	0,8	-	7,5 mg MTX

A táblázatban használt rövidítések:

HCT L/L:

Steroidok

Dexametasolon: D

Methylprednisolon: M

Triamcinolon: T

Prednisolon: P

Bázisterápiás szerek

Chloroquin: Ch

Methotrexát: MTX

Cyclosporin: C

Sulfasalazin:S

A dózisok MTX esetében heti dózist,

a többi gyógyszer esetén napi dózist jelentenek

Eredmények:

A statisztikai számításokat Wilcoxon-teszt segítségével végeztük. A kapott eredményeket a 2-8. táblázatokban mutatjuk be.

2. táblázat

Ritchie-index változása a kiindulási értékhez képest 6 illetve

12 hónap múlva

Idő	Z érték	Szignifikancia
0-6 hó	2,574	p< 0,010
0-12 hó	2,953	p< 0,003
6-12 hó	0,534	p< 0,594 N.S.

3. táblázat

HAQ érték változása a kiindulási értékhez képest 6 ill. 12 hónap

múlva

Idő	Z érték	Szignifikancia
0-6 hó	3,020	p< 0,003
0-12 hó	2,448	p< 0,014
6-12 hó	1,433	p< 0,152 N.S.

4. táblázat

Reggeli izületi merevség időtartamának változása a kiindulási értékhez képest 6 illetve 12 hónap múlva

A kezelés tartama	Megszűnt	Javult	Nem változott	Fokozódott	Szignifikancia p
0-6 hó	2	9	2	0	0,009
0-12 hó	2	9	1	1	0,002

5. táblázat

Sülyedés változása a kiinduló értékhez képest 6 illetve 12 hónap múlva

Idő	Z érték	Szignifikancia
0-6 hó	2,131	p< 0,033
0-12 hó	1,250	p< 0,211 N.S.
6-12 hó	0,559	p< 0,576 N.S.

6. táblázat

CRP-szint változása

Idő	Z érték	Szignifikancia
0-6 hó	1,318	p< 0,187 N.S.
0-12 hó	0,426	p< 0,670 N.S.
6-12 hó	0,565	p< 0,572 N.S.

Az összehasonlítás egymintás t-próbával történt.

7. táblázat

Haematokrit-érték változása

Idő	Z érték	Szignifikancia
0-6 hó	1,494	p< 0,157 N.S.
0-12 hó	3,011	p< 0,009
6-12 hó	0,722	p< 0,482 N.S.

Az összehasonlítás egymintás t-próbával történt.

8. táblázat

Szteroid dózis változása 6 illetve 12 hónap múlva

Kezelés tartama	Dózis változatlan	Dózis csökkent	Dózis emelkedett	Szignifikancia, p
0-6 hó	5	6	0	0,031
0-12 hó	5	5	1	0,116 N.S.

4 beteg nem kapott szteroidot

A 11 szteroidot szedő beteg közül 5-nek az eredeti, indulásnál beállított gyógyszeradagja változatlan maradt, 2 beteg felére, 2 beteg 7,5 mg-ról 5 mg-ra tudta csökkenteni az eredeti mennyiséget. A bázisterápiás szerek dózisa a 12 hónapos vizsgalati periódusban 4 betegnél változott: egynél az MTX 12,5 mg-ról 15 mg-ra emelkedett, a másik háromnál a ciklosporin dózisa 175-ről 125 mg-ra, 225-ről 100 mg-ra, illetve 200-ról 100 mg-ra csökkent. 5 betegnél a dózis nem változott.

A vizsgálat során a hemoglobin, máj- és vesefunkciós laboratóriumi paraméterekben szignifikáns változást nem észleltünk.

A kapott adatok alapján megállapítható, hogy a terápia-rezisztens RA-s betegek Avemarral történő kezelése az első félévben meglepően jó eredményeket hozott. A betegek a klinikai paramétereiket tekintve kivétel nélkül igen jelentősen javultak, sőt a betegek szteroid dózisát is csökkenteni lehetett. A kezelés második felének végére a klinikai paraméterek szignifikáns javulása a kezdethez képest még mindig javulást mutatott.

A fentiek alapján a találmány tárgya fermentált búzacsíra kivonat (Avemar) alkalmazása gyulladásos állapotok kezelésére és/vagy megelőzésére és/vagy csökkentésére alkalmas gyógyszerkészítmények előállítására.

Az Avemar előnyösen alkalmazható izületi gyulladások, még előnyösebben reumatoid artritisz kezelésére és/vagy megelőzésére és/vagy csökkentésére alkalmas gyógyszerkészítmények előállítására.

A találmány tárgya továbbá eljárás hatóanyagként fermentált búzacsíra kivonatot tartalmazó gyógyszerkészítmény előállítására, amely abban áll, hogy az ismert módon előállított hatóanyagot szokásos gyógyszerészeti segédanyagokkal együtt gyulladásos megbetegedések kezelésére és/vagy megelőzésére és/vagy csökkenésére alkalmas gyógyszerkészítménnyé feldolgozzuk. A találmány szerinti eljárással előnyösen reumatoid artritisz kezelésére és/vagy megelőzésére és/vagy enyhítésére alkalmas gyógyszerkészítményt állítunk elő.

Továbbá azt találtuk, hogy az Avemar kiválóan alkalmazható más hatóanyagokkal, elsősorban nem-szteroid típusú (NSAID) gyulladáscsökkentő szerekkel együtt, pl. diclofenac, ibuprofen, piroxicam, tolmetin és hasonlók. Az együttadás eredményeképpen az NSAID típusú szerek dózisa lényegesen csökkenthető, ami nagy előny toxicitásukat tekintve. Igy pl. diclofenac-kal történő együttadásnál azt találtuk, hogy minden hatóanyag mennyisége 50%-kal csökkenthető ugyanazon hatás elérése mellett.

Ezek alapján a találmány tárgya fermentált búzacsíra kivonat és egy gyulladáscsökkentő szer együttes alkalmazása reumatoid

artritisz kezelésére és/vagy megelőzésére és/vagy enyhítésére alkalmas gyógyszerkészítmény előállítására. A találmány szerinti alkalmazásban az egyéb gyulladáscsökkentőként előnyösen egy nem-szteroid gyulladáscsökkentőt használunk.

A találmány továbbá egy kombinált gyógyszerkészítményre is vonatkozik, amely fermentált búzacsíra kivonatot és egy további hatóanyagot, előnyösen nem-szteroid gyulladáscsökkentőt tartalmaz gyógyszerészeti leg elfogadható hordozóban.

Előnyös az a kombinált gyulladáscsökkentő gyógyszerkészítmény, amely hatóanyagként hatékony mennyiségű fermentált búzacsíra kivonatot és diclofenacot tartalmaz.

A jelen találmányban alkalmazott hatóanyag számos orális és parenterális dózisformában előállítható és beadható reumatoid artritisz kezelésére és megelőzésére. A hatóanyag általában kb. 5 - 95 t% koncentrációban van jelen a gyógyszerformában.

A gyógyszerkészítmények előállításához felhasznált gyógyászatilag elfogadható hordozók szilárd vagy folyadék fázisúak lehetnek. Szilárdfázisú gyógyszerkészítményekre példaként szolgálnak a porok, tableták, pilulák, kapszulák, ostyák, rombusz alakú gyógyszerformák, kúpok és diszpergálható granulátumok. A szilárd hordozó lehet egy vagy több adalékanyag, mint pl. higítószerek, ízesítőanyagok, szolubibilizáló szerek, lubrikánsok, szuszpendáló anyagok, kötőanyagok, tartósítószerek, tabletta dezintegrálószerek vagy kapszulázó anyagok.

A porokban a hordozó egy finomra porított szilárd anyag, amely a finoman eloszlatott aktív komponenssel keveréket alkot.

A tabletákban a szükséges kötései tulajdonságokkal rendelke-

ző vivőanyagot megfelelő arányban összekeverjük az aktív komponenssel és a kívánt alakra és méretre préseljük.

A porok és tablettaik előnyösen 5-10%-tól 70%-ig terjedően tartalmazzák a hatóanyagot. Alkalmas hordozóanyagokra példaként szolgálnak a magnézium-karbonát, magnézium-sztearát, talkum, cukor, laktóz, pektin, dextrin, ciklodextrin, maltodextrin, keményítő, zselatin, tragakanta, metilcellulóz, nátrium-karboximetilcellulóz, alacsony olvadáspontú viaszok, kakaóvaj és hasonlók. Az előállítás magában foglalja a hatóanyag formulázását a kapszulázó anyaggal, mint hordozóval, így egy kapszulához jutunk, amelyben a hatóanyagot - egyéb vivőanyagokkal vagy anélkül - körbeveszi a hordozó, amely ezáltal kapcsolatban van a hatóanyaggal. Hasonlóképpen történik az ostyák és rombusz alakú gyógyszerformák előállítása. Tabletták, porok, kapszulák, pilulák, ostyák és rombusz alakú gyógyszerformák alkalmazhatók orális beadáshoz.

Kúpok előállításához alacsony olvadáspontú viaszokat, mint pl. zsírsav-gliceridek keverékét vagy kakaóvajat, először megolvasztunk és a hatóanyagot keveréssel homogénen diszpergáljuk benne. Az olvadt homogén keveréket ezután megfelelő méretű kúpöntő formákba öntjük, hagyjuk lehűlni és ezáltal megszilárdulni.

A folyékony gyógyszerkészítményekre példák az oldatok, szuszpenziók, emulziók, szirupok és elixírek, mint pl. vizes vagy vizes propilén- glikolos oldatok. Parenterális injekcióhoz folyékony gyógyszerkészítmények formulázhatók vizes polietilén-glikol oldatban.

Orális felhasználásra alkalmas vizes oldatok előállíthatók

az aktív komponenes vízben történő oldásával és megfelelő színezőanyag, ízesítőanyag, stabilizálószer és sűrítőszer hozzáadásával.

Orális felhasználásra alkalmas szuszpenziók előállíthatók, a finomra aprított aktív komponens vízben történő diszpergálásával viszkózus anyaggal együtt, mint pl. természetes vagy szintetikus gumik, gyanta, metil-cellulóz, nátrium-karboxi-metil-cellulóz és más jól ismert szuszpendáló szerek.

A szilárd gyógyszerkészítmények közé tartoznak azok is, amelyeket röviddel a felhasználás előtt szándékozunk átalakítani folyékony készítményekké orális beadás céljára. Az ilyen folyékony gyógyszerformákra példaként szolgálnak az oldatok, szuszpenziók és emulziók. Ezen gyógyszerkészítmények az aktív komponensen kívül tartalmazhatnak színezőanyagokat, ízesítőanyagokat, stabilizáló szereket, puffereket, mesterséges és természetes édesítőszereket, diszpergáló szereket, sűrítőszereket, szolubilizáló szereket és hasonlókat.

A parenterális úton való bejuttatásra szolgáló steril kompozíciók előnyösen vizes vagy nem-vizes oldatok, szuszpenziók vagy emulziók lehetnek. Oldószerként vagy vívőanyagként alkalmazhatók a víz, propilénglikol, valamilyen poli(etilénglikol), növényi olajok, különösen az olívaolaj, az injektálható szerves észterek, például az etil-oleát. Ezek a kompozíciók ugyancsak tartalmazhatnak egyéb segédanyagokat, különösen nedvesítő, izotonizáló, emulgeáló, diszpergáló és stabilizáló szereket. A sterilizés elvégezhető többféle módon, például aszeptikus szúréssel, steriliző szereknek a kompozícióba való bejuttatásával,

besugárzással vagy hőkezeléssel. Ugyancsak elkészíthetők olyan steril szilárd kompozíciók alakjában, amelyeket fel lehet oldani a felhasználás pillanatában steril vizben vagy bármely más injektálható közegben.

A gyógyszerkészítmények előnyösen egység dózis formájában vannak kiszerelve. Az ilyen gyógyszerformákban a készítmény egység dózisokra van felosztva, amelyek a hatóanyag meghatározott mennyiségét tartalmazzák. Az egység dózis forma lehet egy olyan csomagolt készítmény, ahol a csomagolás a készítmény diszkrét mennyiségeit tartalmazza, mint pl. csomagolt tabletta, kapszulák és porok fiolában vagy ampullában. Továbbá az egység dózis forma lehet kapszula, tabletta, ostya vagy rombusz alakú gyógyszer vagy ezek bizonyos száma csomagolt formában.

Az egység dózis készítményekben az aktív komponens mennyisége változhat vagy beállítható a felhasználásnak és a hatóanyag potenciáljának megfelelően 1 - 1000 mg között, előnyösen 10 - 100 mg között. A készítmények, szükség esetén, más kompatibilis terápiás szereket is tartalmazhatnak.

A találmány szerint alkalmazott készítmény hatékony dózisa és a dózis mértéke, hogy megelőzzük, elnyomjuk vagy gátoljuk az artritiszt, természetesen számos faktortól függ. Az alkalmas dózis meghatározása a szakember köteles tudéséhez tartozik. Általánosságban a kezelő orvos szabja meg a megfelelő adagolást a kezelendő személy életkorától, testtömegétől és minden más egyéni tényezőjétől függően. A dózisszintek körülbelül napi 0,1 és 1000 mg/testttömeg kg között vannak, előnyösen kb. 1 és 500 mg/kg között és még előnyösebben kb. 50 és 250 mg/testttömeg kg/nap kö-

zött vannak. A biztonságosság miatt a teljes napi dózist feloszthatjuk és adagolhatjuk részletekben a nap folyamán, ha szükséges.

Abban az esetben, amikor a készítmények az Avemar mellett egy további hatóanyagot is tartalmaznak, az egyéb hatóanyagot az alábbi csoportból választhatjuk ki: kortikoszteroidok, gyulladáscsökkentők, reumaellenes szerek, immunszuppresszánsok, antimetabolitok és immunmodulátorok. Ezekbe az osztályokba tartozó vegyületek felsorolása megtalálható a következő kézikönyvben: "Comprehensive Medical Chemistry", Pergamon Press, Oxford, 970-986 (1990). Ebben a csoportban találhatók pl. a szulfaszalazin és aminoszalicilátok (gyulladáscsökkentők); ciklosporin, FK-506 és rapamicin (immunszuppresszánsok); ciklofoszfamid és metotrexát (antimetabolitok); dexametazon, metilprednizolon, triamcinolon, prednizolon (szteroidok) és interferonok (immunmodulátorok). Amikor az Avemart egy vagy több további hatóanyaggal kombinációban alkalmazzuk, akkor a hatóanyagokat kiszerelhetjük együttesen vagy más megoldásként beadhatjuk kombinációban. Egy vagy több hatóanyag kombinációban történő beadása Avemar-ral együtt történhet lényegében egyidejűleg vagy egymást követően. A szakember meg tudja határozni a legmegfelelőbb beadási módot a felszabaduló hatóanyagoktól, a kívánt eredménytől, a betegtől és kezelendő állapottól függően.

Szabadalmi igénypontok

1. Fermentált búzacsíra kivonat alkalmazása gyulladásos állapotok kezelésére és/vagy megelőzésére és/vagy csökkentésére alkalmas gyógyszerkészítmények előállítására.

2. Az 1. igénypont szerinti alkalmazás izületi gyulladások kezelésére és/vagy megelőzésére és/vagy csökkentésére alkalmas gyógyszerkészítmények előállítására.

3. A 2. igénypont szerinti alkalmazás reumatoid artritisz kezelésére és/vagy megelőzésére és/vagy tüneteinek enyhítésére alkalmas gyógyszerkészítmény előállítására.

4. Eljárás hatóanyagként fermentált búzacsíra kivonatot tartalmazó gyógyszerkészítmény előállítására, azzal jellemezve, hogy az ismert módon előállított hatóanyagot szokásos gyógyszerészeti segédanyagokkal együtt gyulladásos megbetegedések kezelésére és/vagy megelőzésére és/vagy csökkentésére alkalmas gyógyszerkészítménnyé feldolgozzuk.

5. A 4. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy reumatoid artritisz kezelésére és/vagy megelőzésére és/vagy enyhítésére alkalmas gyógyszerkészítményt állítunk elő.

6. Fermentált búzacsíra kivonat alkalmazása egyéb hatóanyaggal, elsősorban gyulladáscsökkentővel együtt izületi gyulladások kezelésére és/vagy megelőzésére és/vagy enyhítésére alkalmas gyógyszerkészítmény előállítására.

7. A 6. igénypont szerinti alkalmazás, melyben az egyéb gyulladáscsökkentő nem-szteroid-típusú.

8. A 7. igénypont szerinti alkalmazás, melyben a nem-

szteroid-típusú gyulladáscsökkentő diclofenac.

9. Kombinált gyógyszerkészítmény, amely hatékony mennyiségű fermentált búzacsíra kivonatot és egy további hatóanyagot tartalmaz gyógyszerészetileg elfogadható hordozóban.

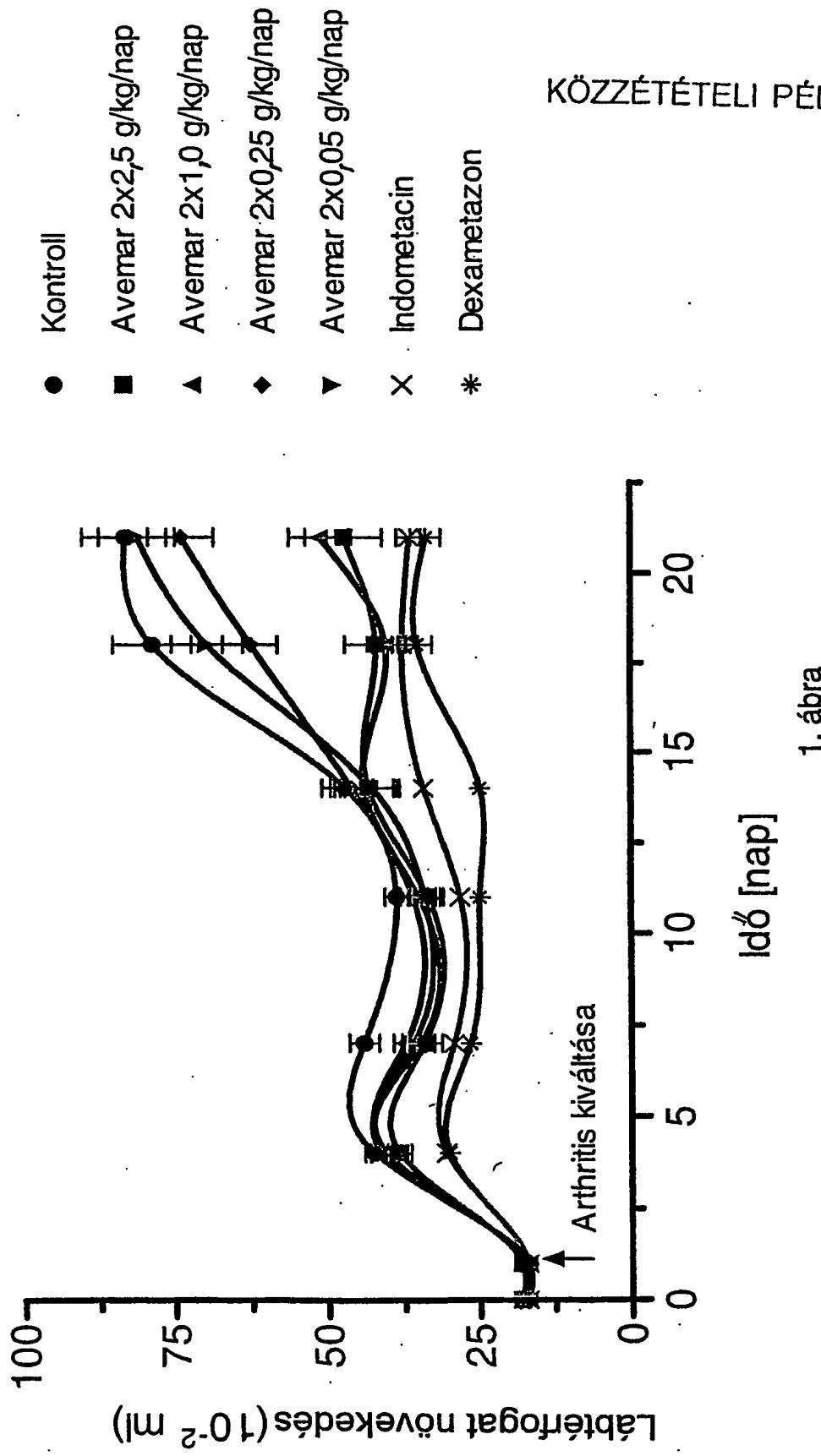
10. A 9. igénypont szerinti gyulladáscsökkentő gyógyszerkészítmény, amely hatóanyagként hatékony mennyiségű fermentált búzacsíra kivonatot és egy nem-szteroid gyulladáscsökkentőt tartalmaz.

A meghatalmazott:

dr. Lang Tivadar
Dr. Lang Tivadarné
szabadalmi ügyvivő
S.B.G. & K. Szabadalmi Ügyvivői Iroda
H-1062 Budapest, Andrásy út 113.
Telefon: 461-1000 Fax: 461-1099

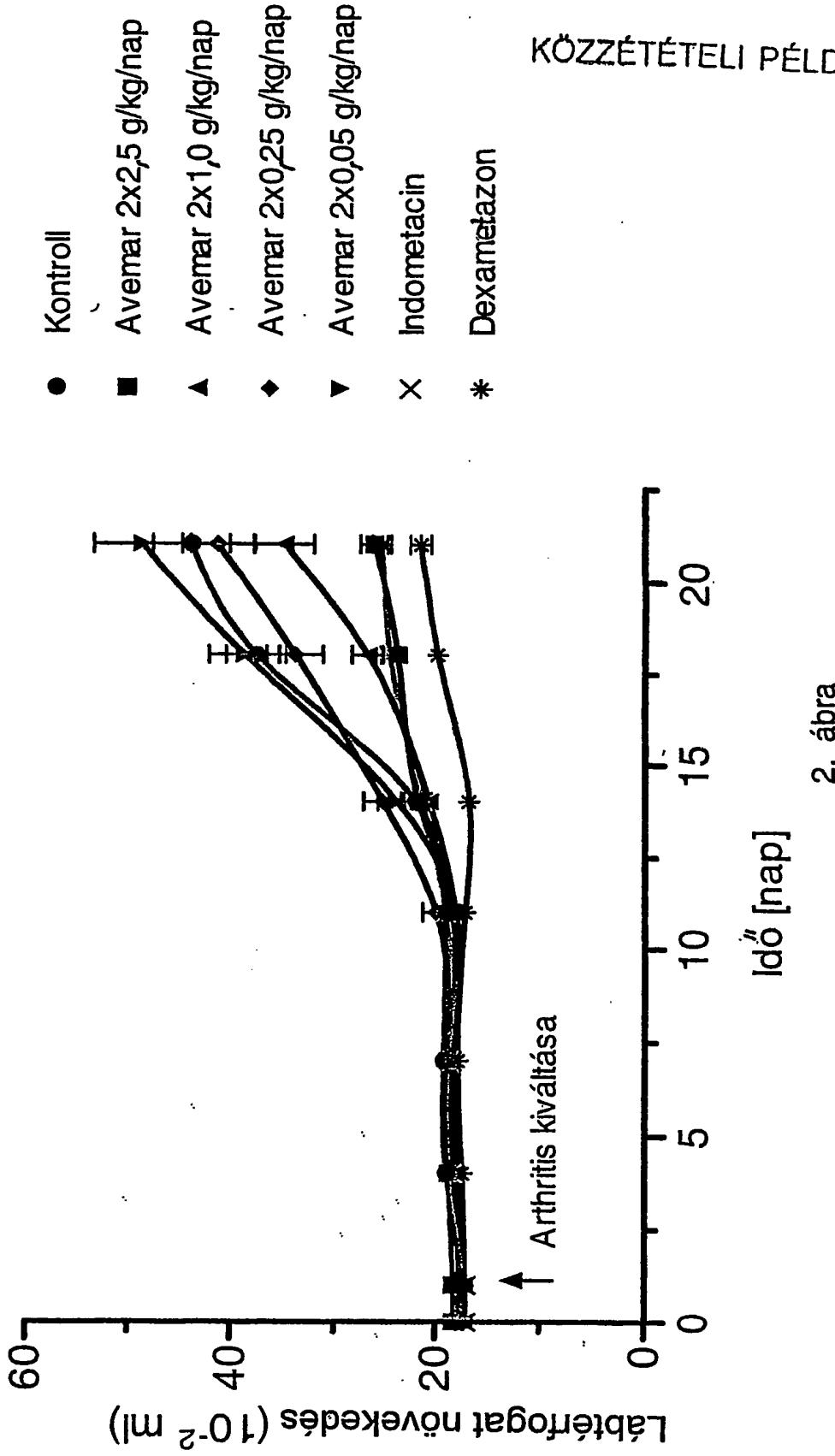
KÖZZÉTELÉLI PÉLDÁNY

22 napos Avemar (p.o.) kezelés hatása
adjuváns arthritisre Wistar patkányban
(injíciált láb)



KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

22 napos Avemar (p.o.) kezelés hatása
adjuváns arthritisre Wistar patkányban
(nem injíciált láb)

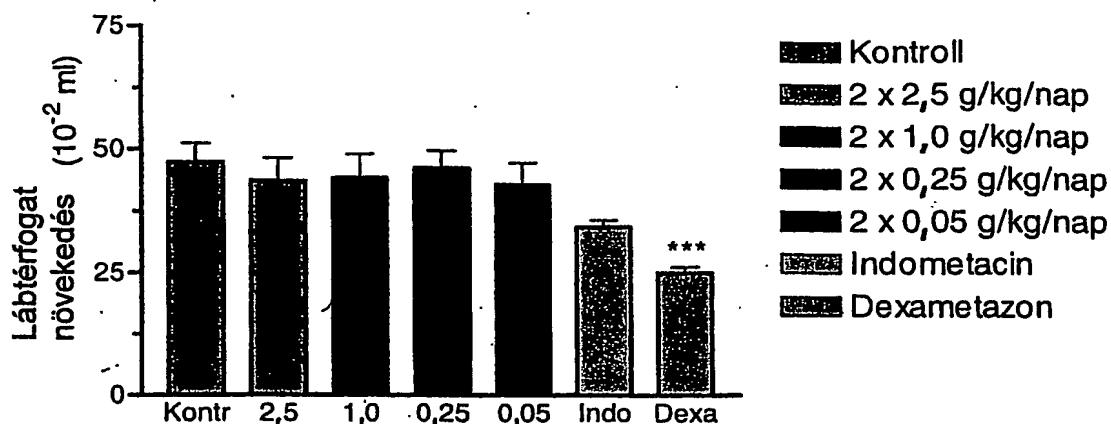


Poz 26.3d

75.153/Lzs

3. ábra

Avemar (p.o.) kezelés hatása adjuváns arthritisre Wistar patkányban a 14. napon (injiciált láb)

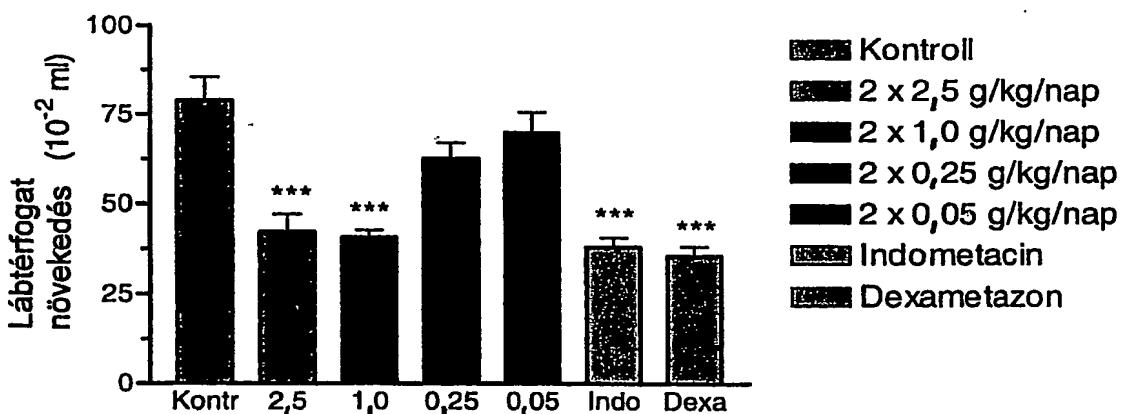


KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

- 3/17

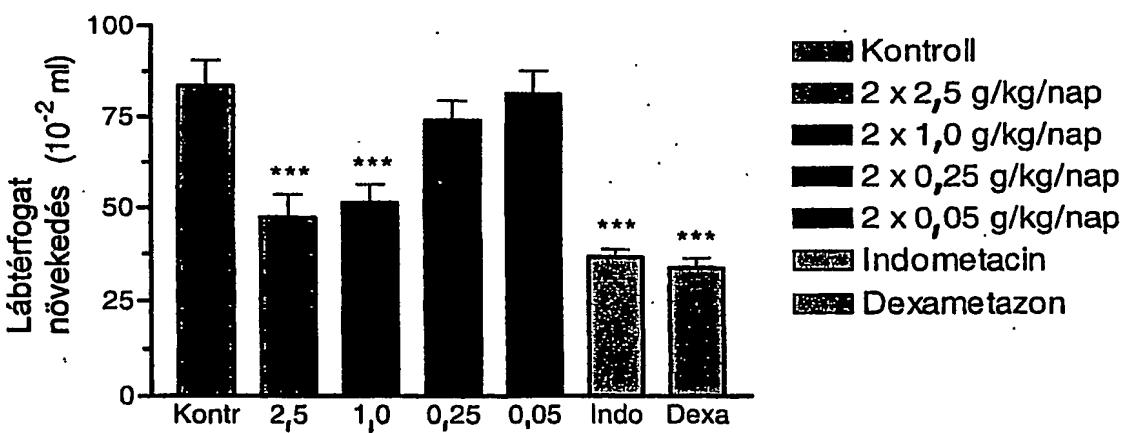
4. ábra

Avemar (p.o.) kezelés hatása adjuváns arthritisre Wistar patkányban a 18. napon (injiciált láb)



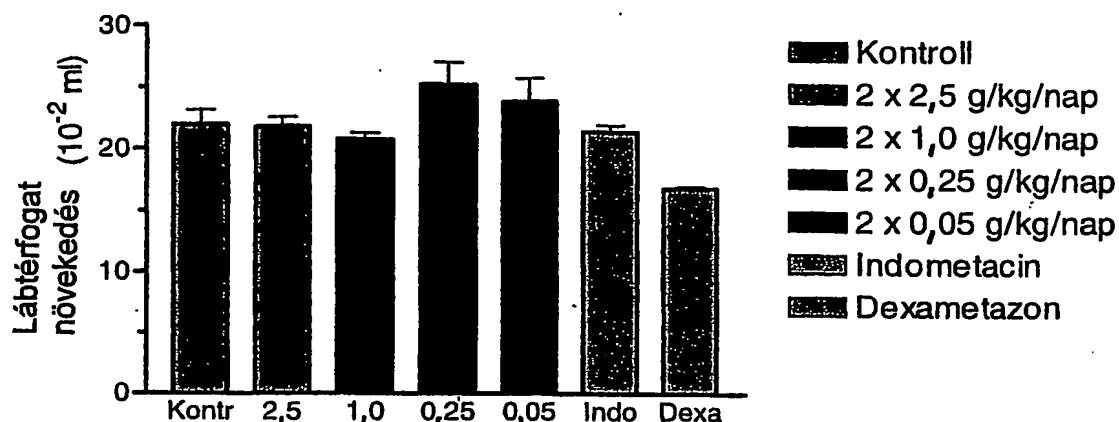
5. ábra

Avemar (p.o.) kezelés hatása adjuváns arthritisre Wistar patkányban a 22. napon (injiciált láb)

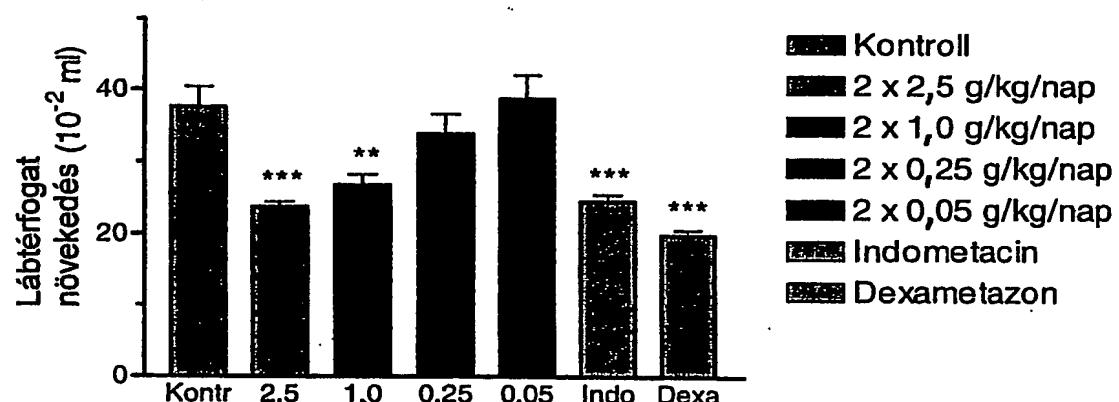


KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

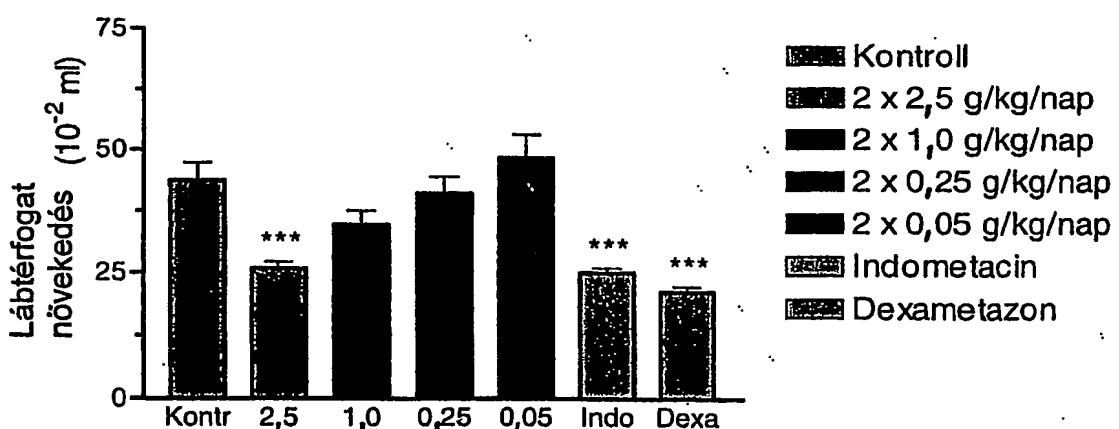
6. ábra Avemar (p.o.) kezelés hatása adjuváns arthritisre Wistar patkányban a 14. napon (nem injiciált láb)



7. ábra Avemar (p.o.) kezelés hatása adjuváns arthritisre Wistar patkányban a 18. napon (nem injiciált láb)

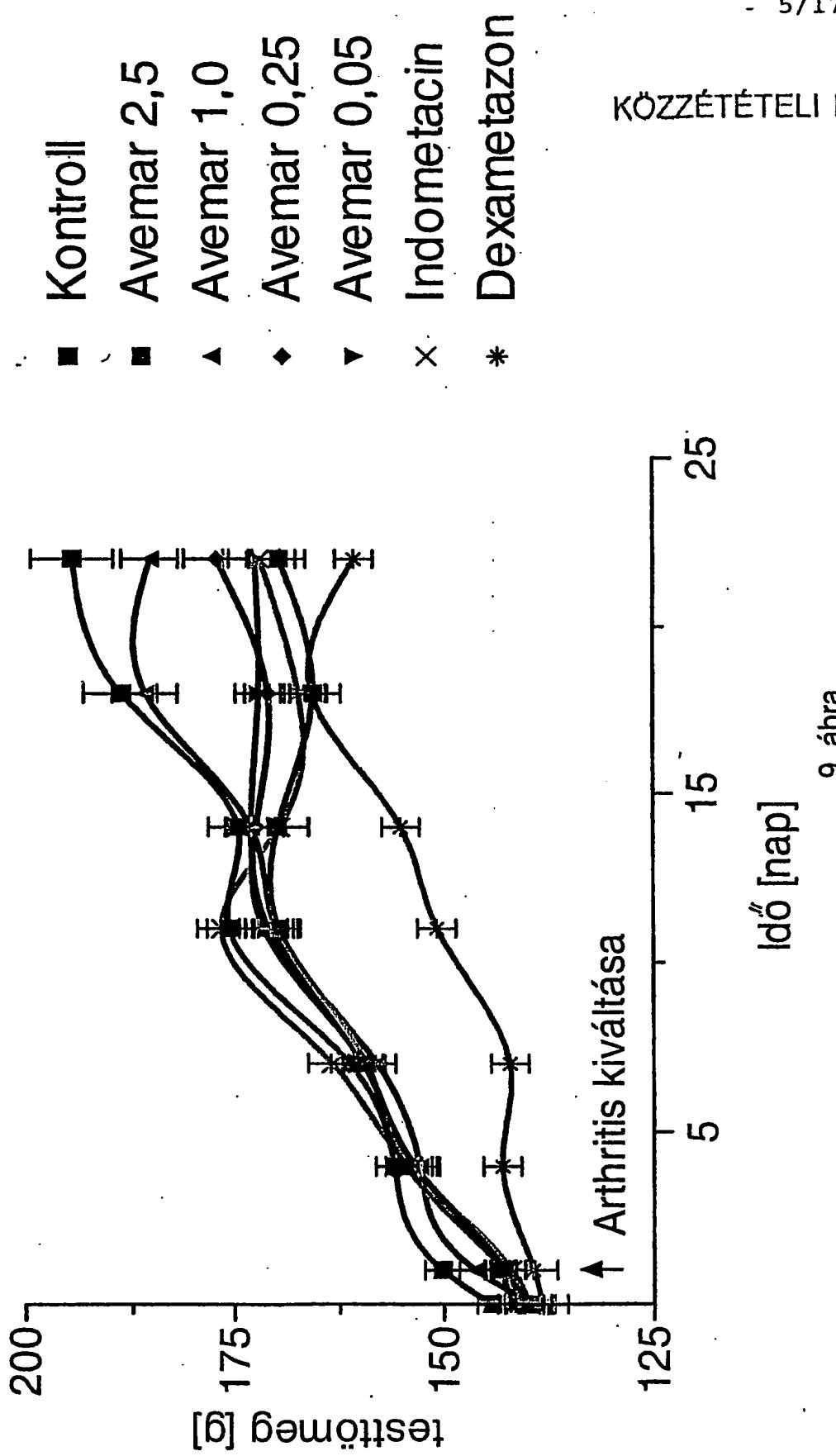


8. ábra Avemar (p.o.) kezelés hatása adjuváns arthritisre Wistar patkányban a 22. napon (nem injiciált láb)



KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

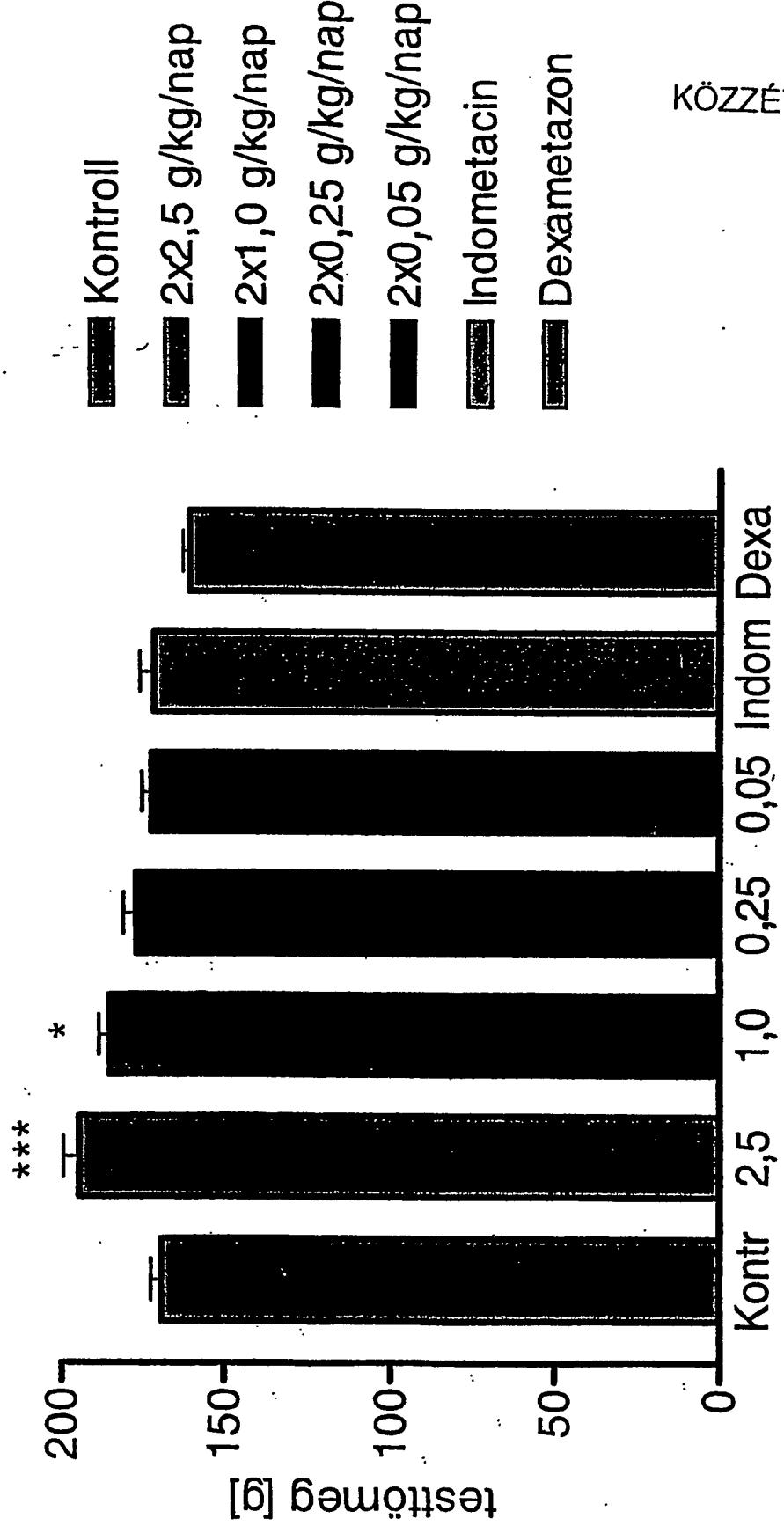
22 napos Avemar (p.o.) kezelés hatása
Wistar patkányok testtömegére



9. ábra

KÖZZÉTELÉLI PÉLDÁNY

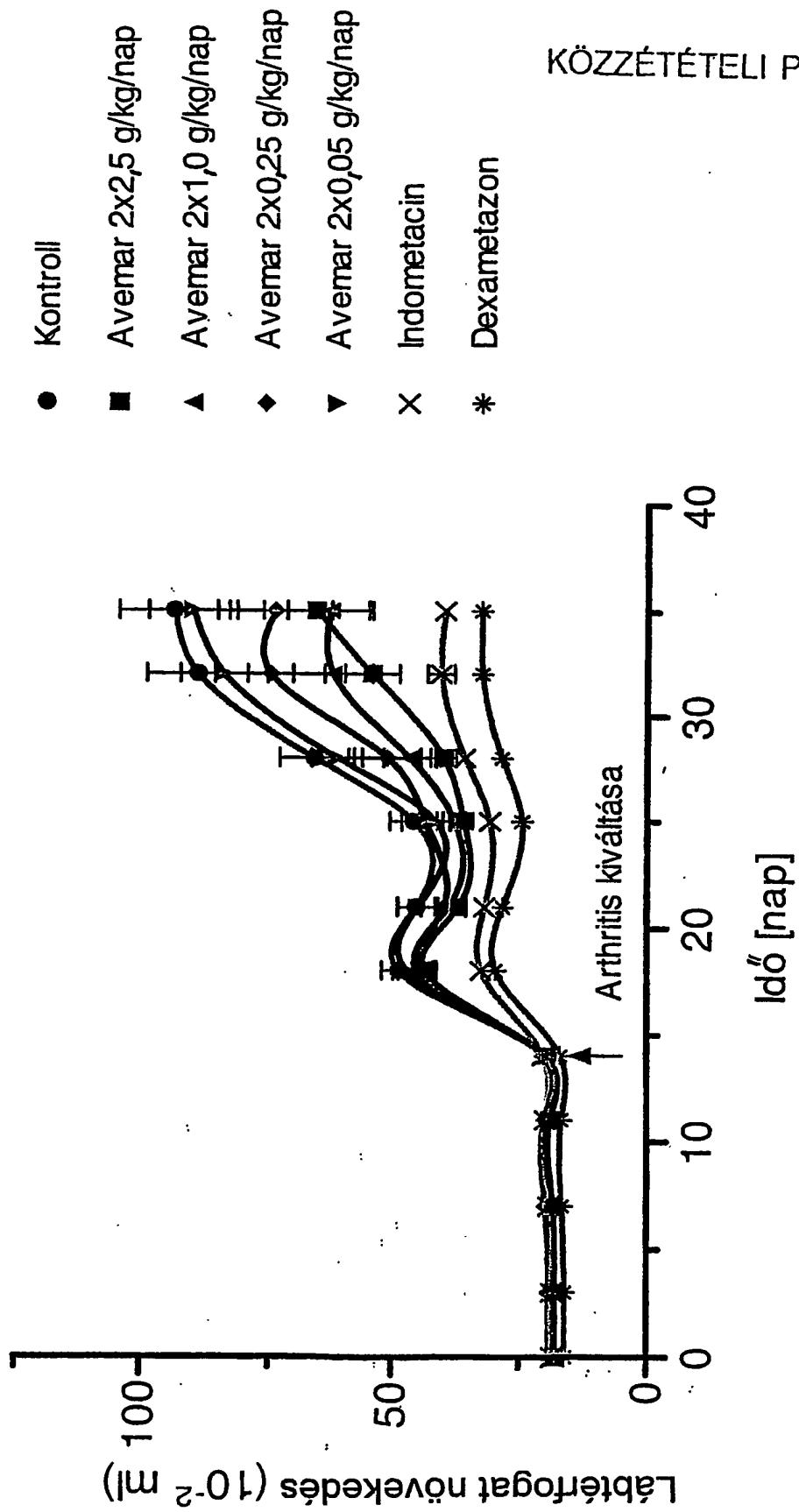
Avermar (p.o.) kezelés hatása Wistar patkányok testtömegére a 22. napon



10. ábra

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

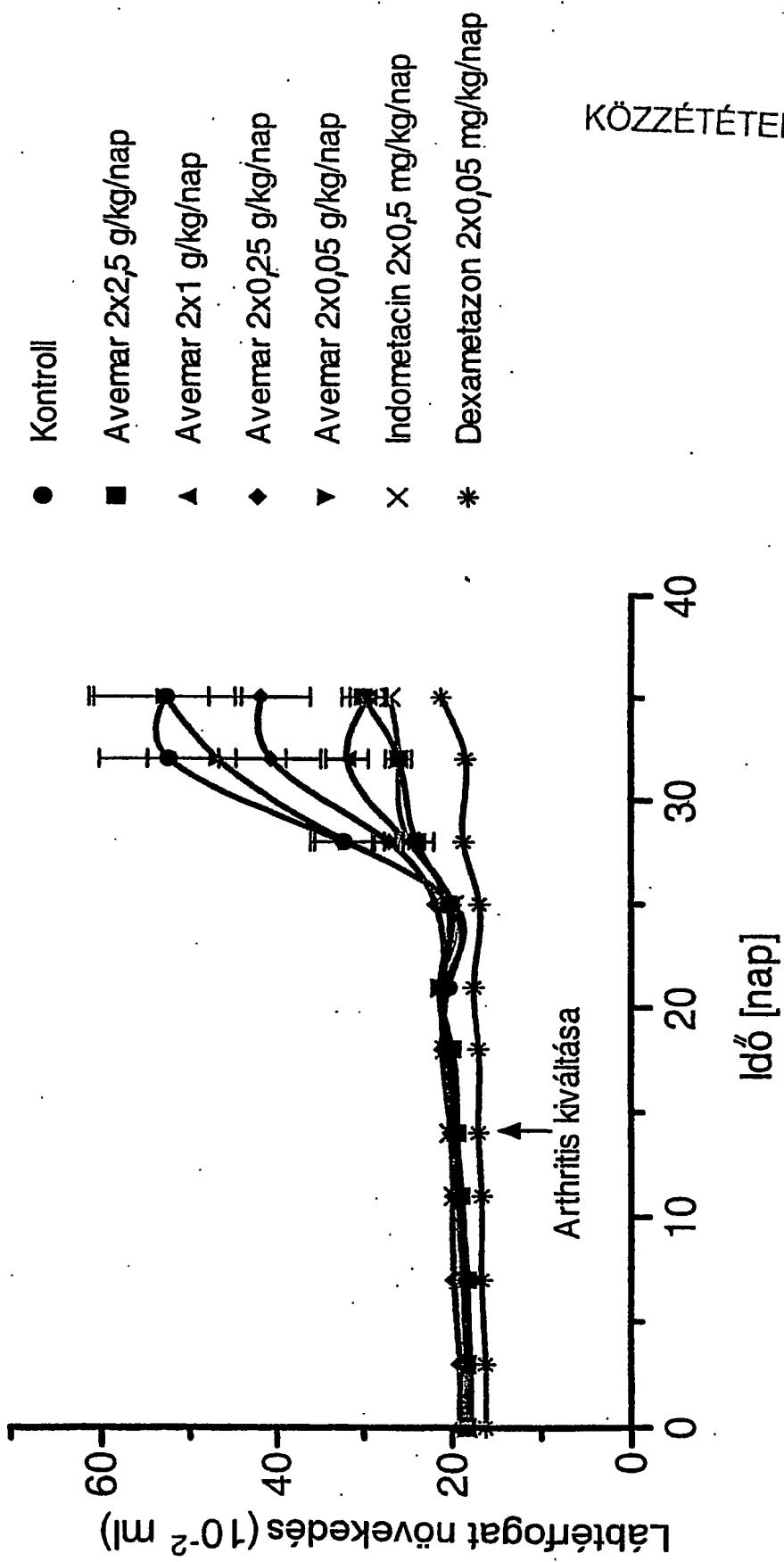
35 napos Avemar (p.o.) kezelés hatása
adjuváns arthritisre Wistar patkányban
(injiciált láb)



11. ábra

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

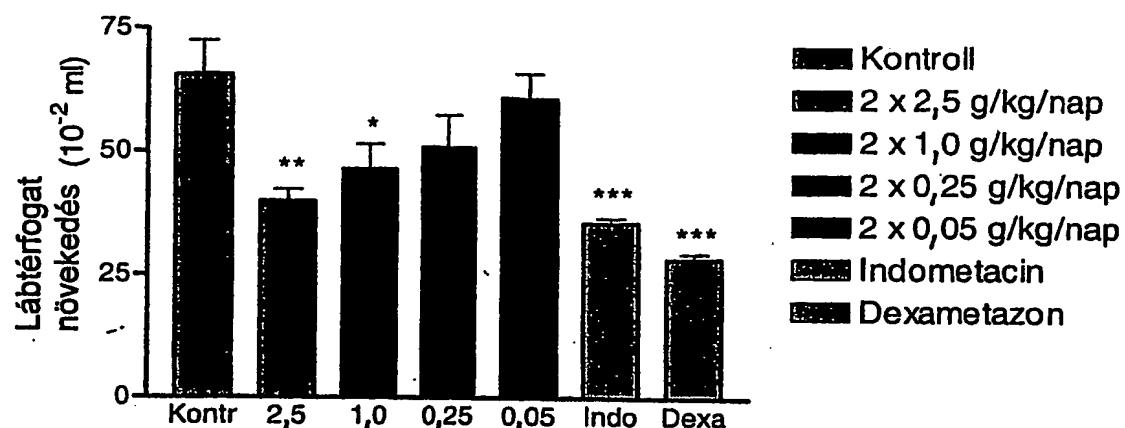
35 napos Avemar (p.o.) kezelés hatása
adjuváns arthritisre Wistar patkányban
(nem injiciált láb)



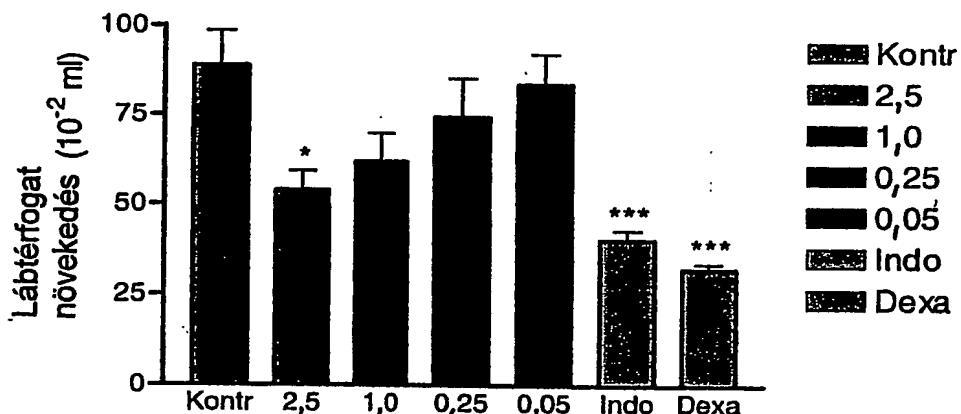
12. ábra

13. ábra Avemar (p.o.) kezelés hatása adjuváns arthritisre Wistar patkányban a 28. napon (injiciált láb)

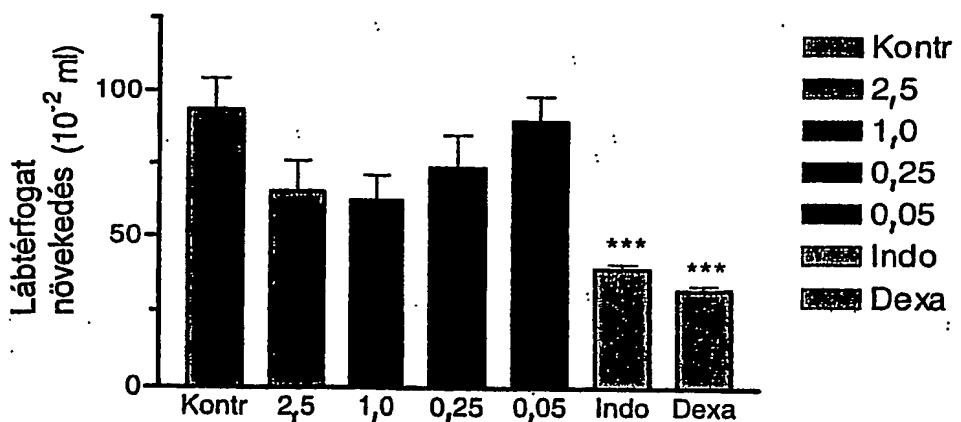
KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY



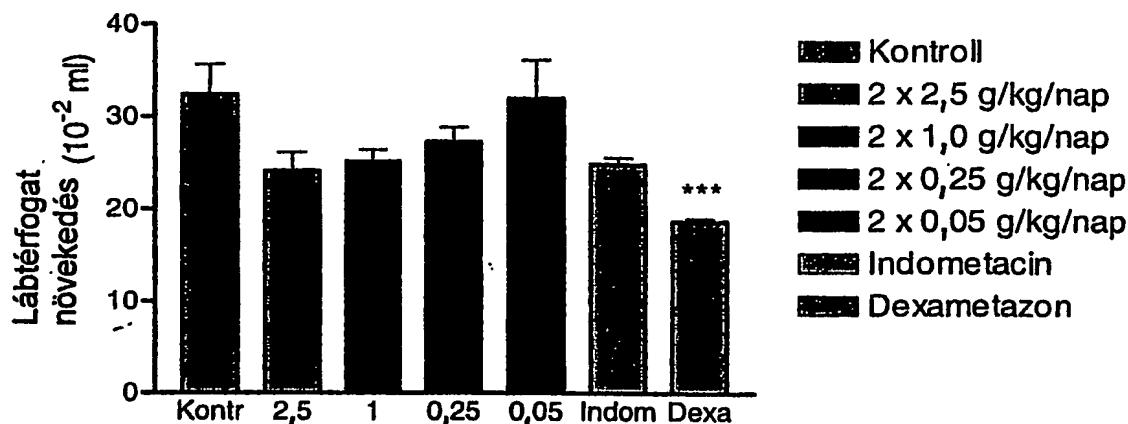
14. ábra Avemar (p.o.) kezelés hatása adjuváns arthritisre Wistar patkányban a 32. napon (injiciált láb)



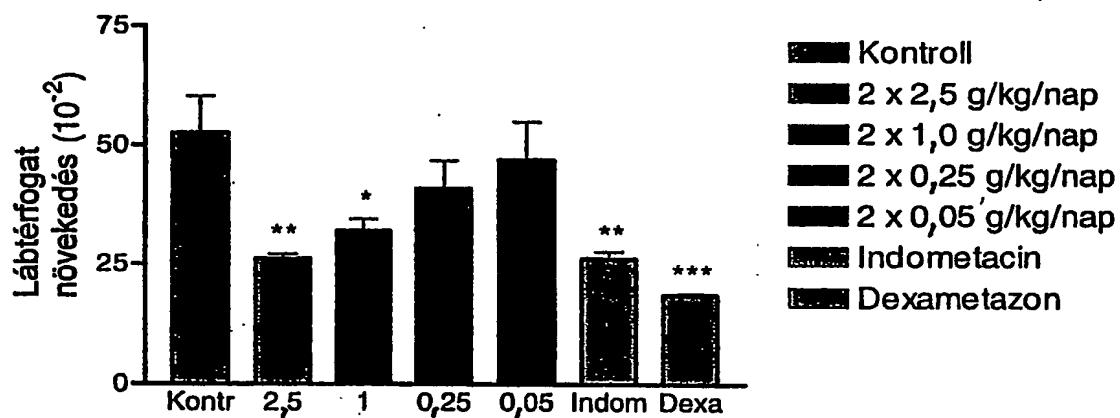
15. ábra Avemar (p.o.) kezelés hatása adjuváns arthritisre Wistar patkányban a 35. napon (injiciált láb)



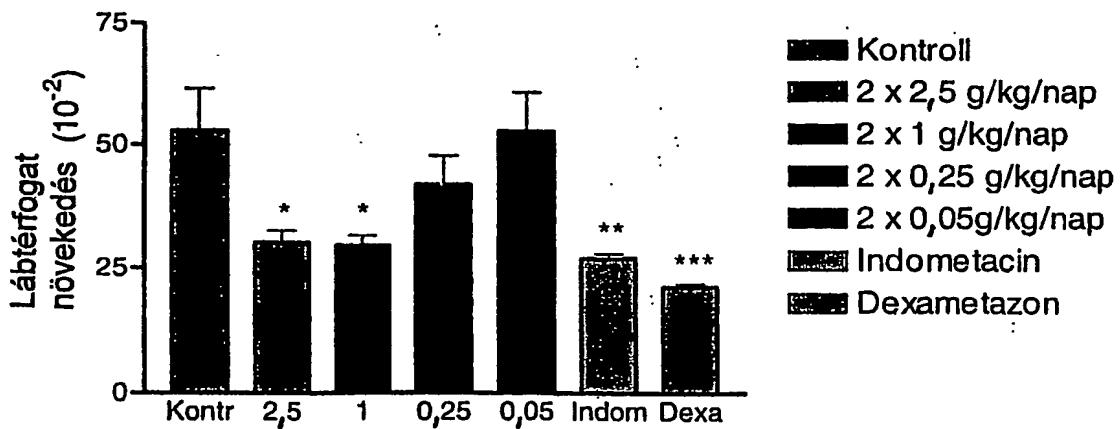
16. ábra Avemar (p.o.) kezelés hatása adjuváns arthritisre Wistar patkányban a 28. napon (nem injiciált láb)



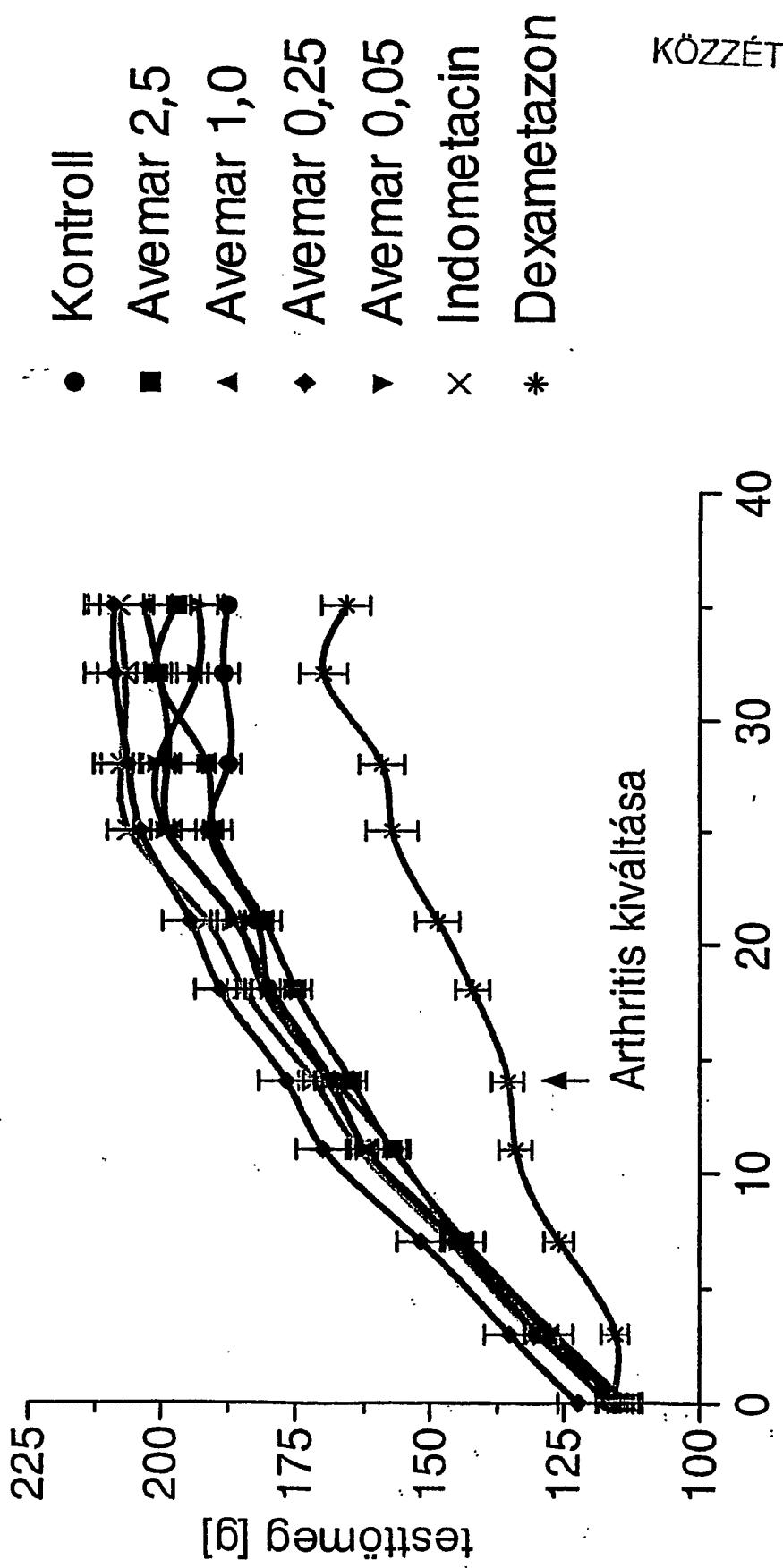
17. ábra Avemar (p.o.) kezelés hatása adjuváns arthritisre Wistar patkányban a 32. napon (nem injiciált láb)



18. ábra Avemar (p.o.) kezelés hatása adjuváns arthritisre Wistar patkányban a 35. napon (nem injiciált láb)



102 1637
35 napos Avemar (p.o.) kezelés hatása
Wistar patkányok testtömegére



KÖZZÉTÉLELI PÉLDÁNY

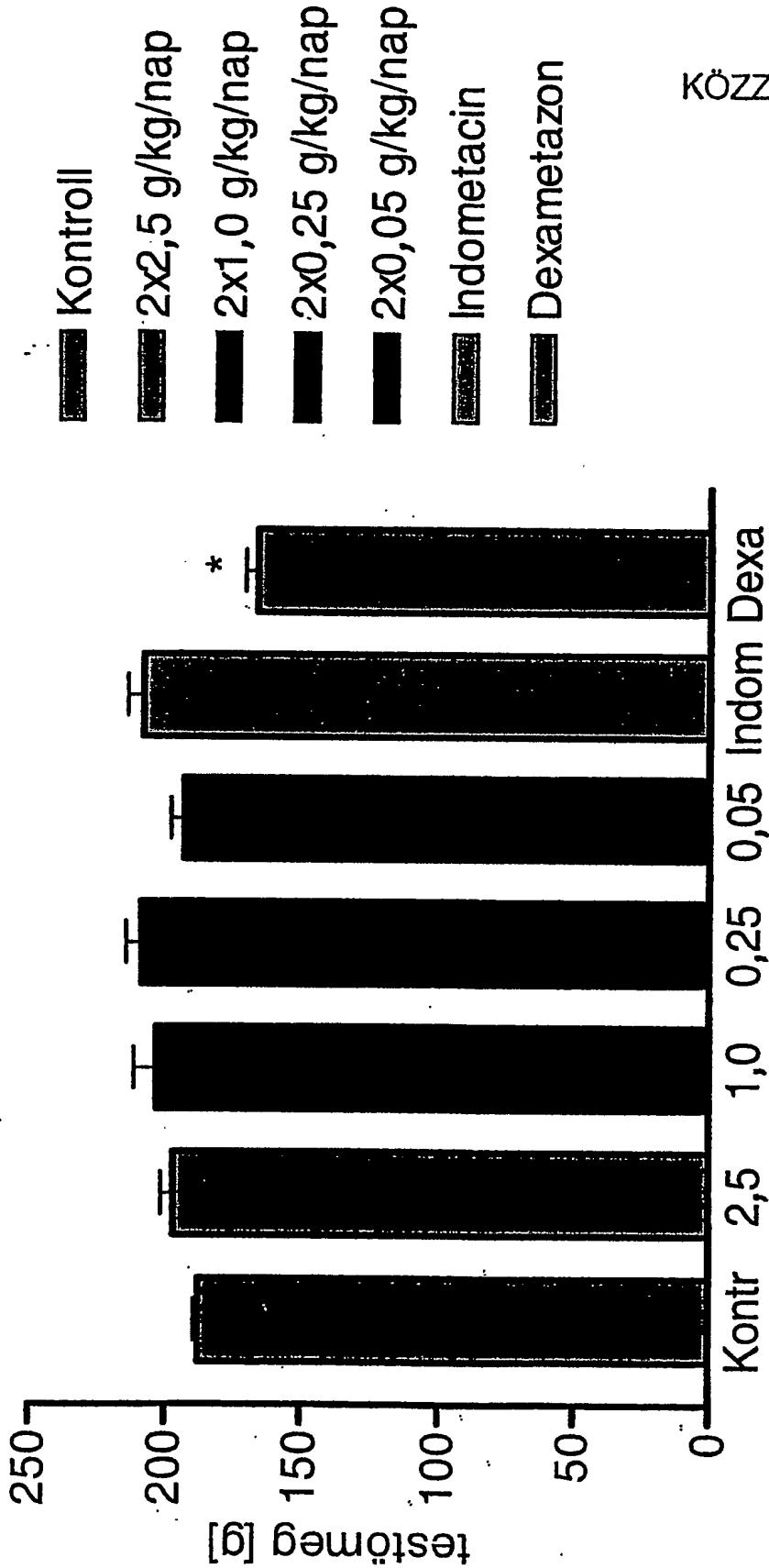
75.153/Lzs

11/17

19. ábra

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

Avermar (p.o.) kezelés hatása Wistar patkányok testtömegére a 35. napon



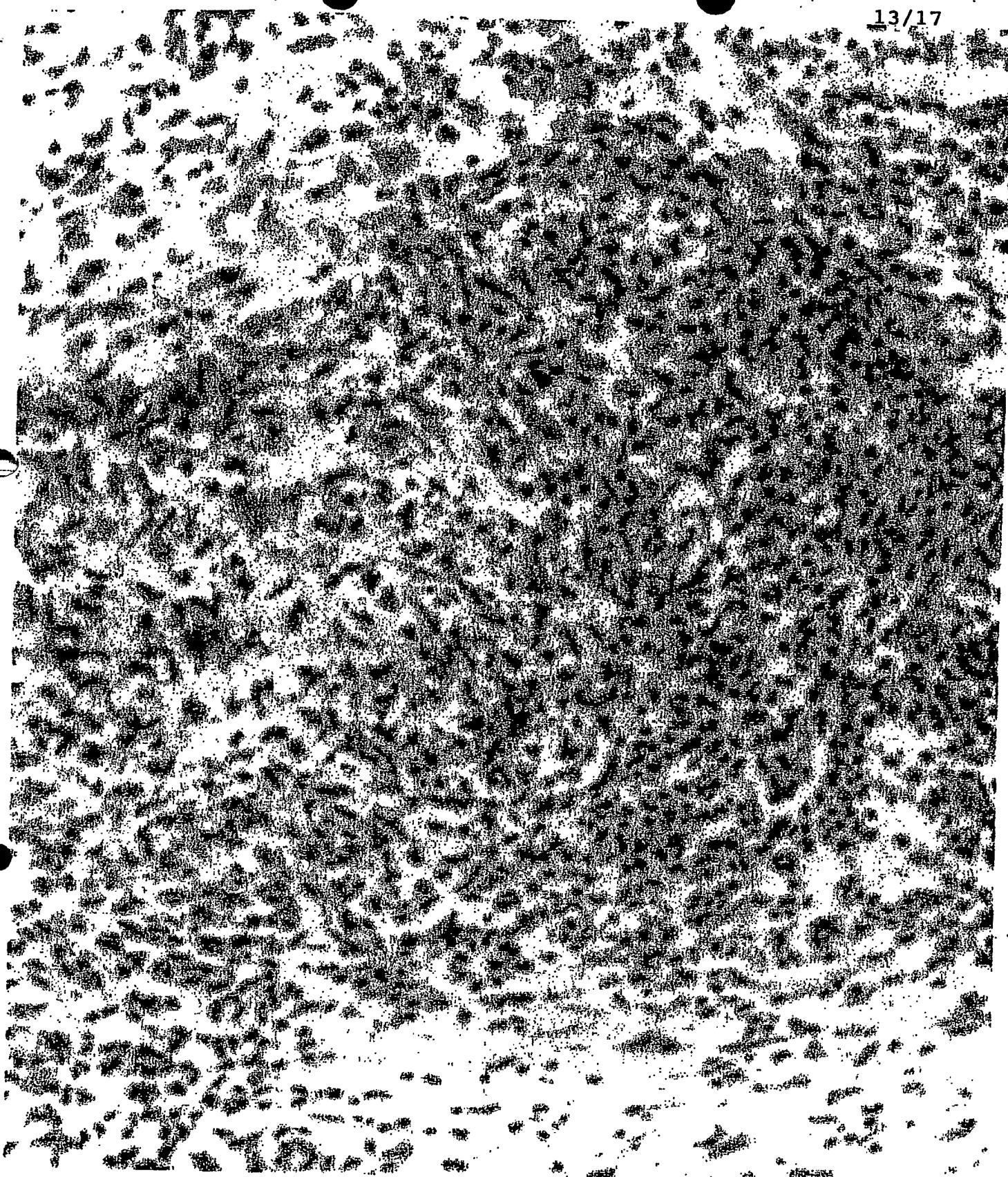
20. ábra

KOZ 26.3.P

KÖZZETETELI PELDÁNY

75.153/Lzs.

13/17



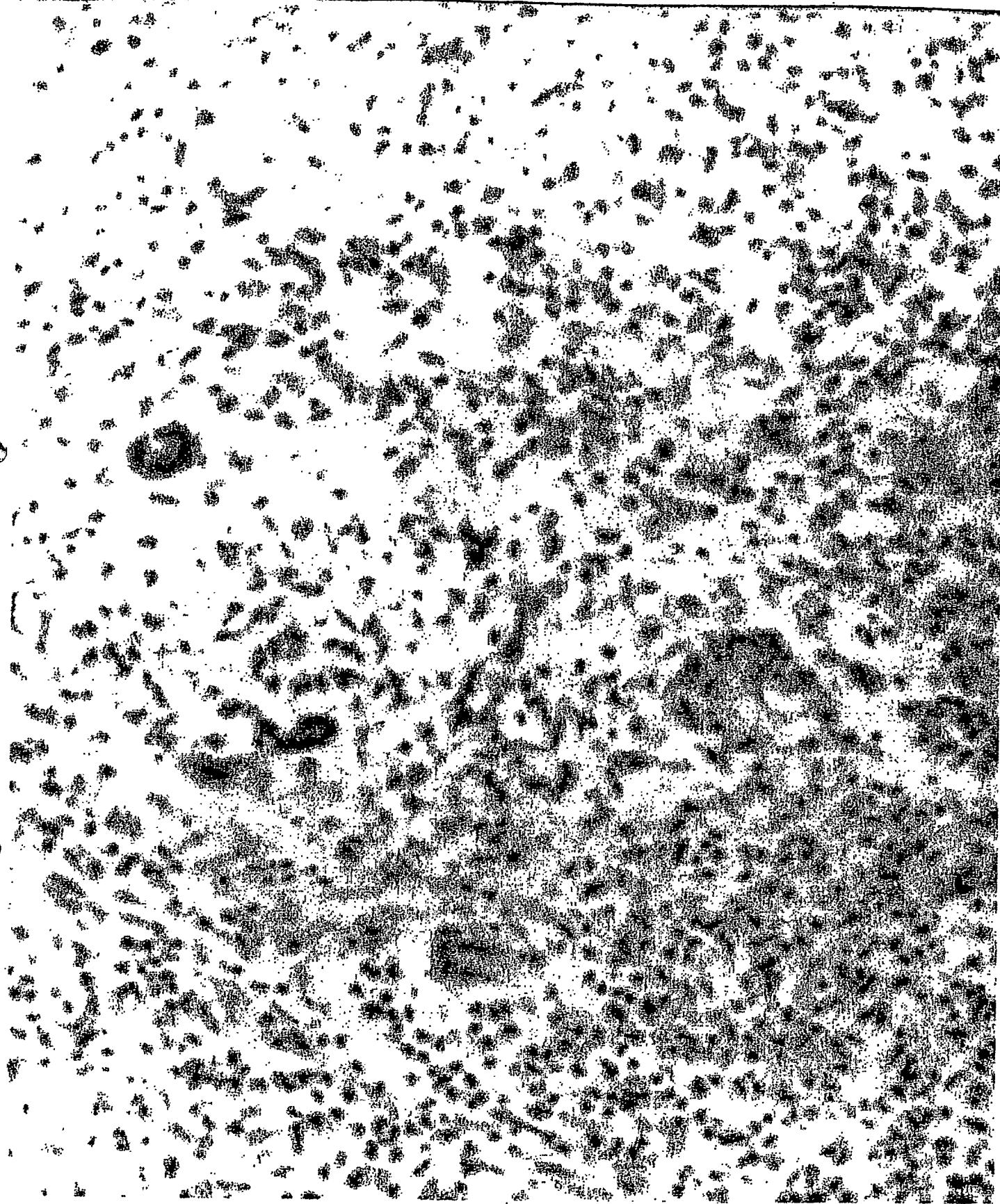
21. ábra

FÜZ 663P

KÖZLEKETELI PÉLDÁN

75.153/LZs

14/17



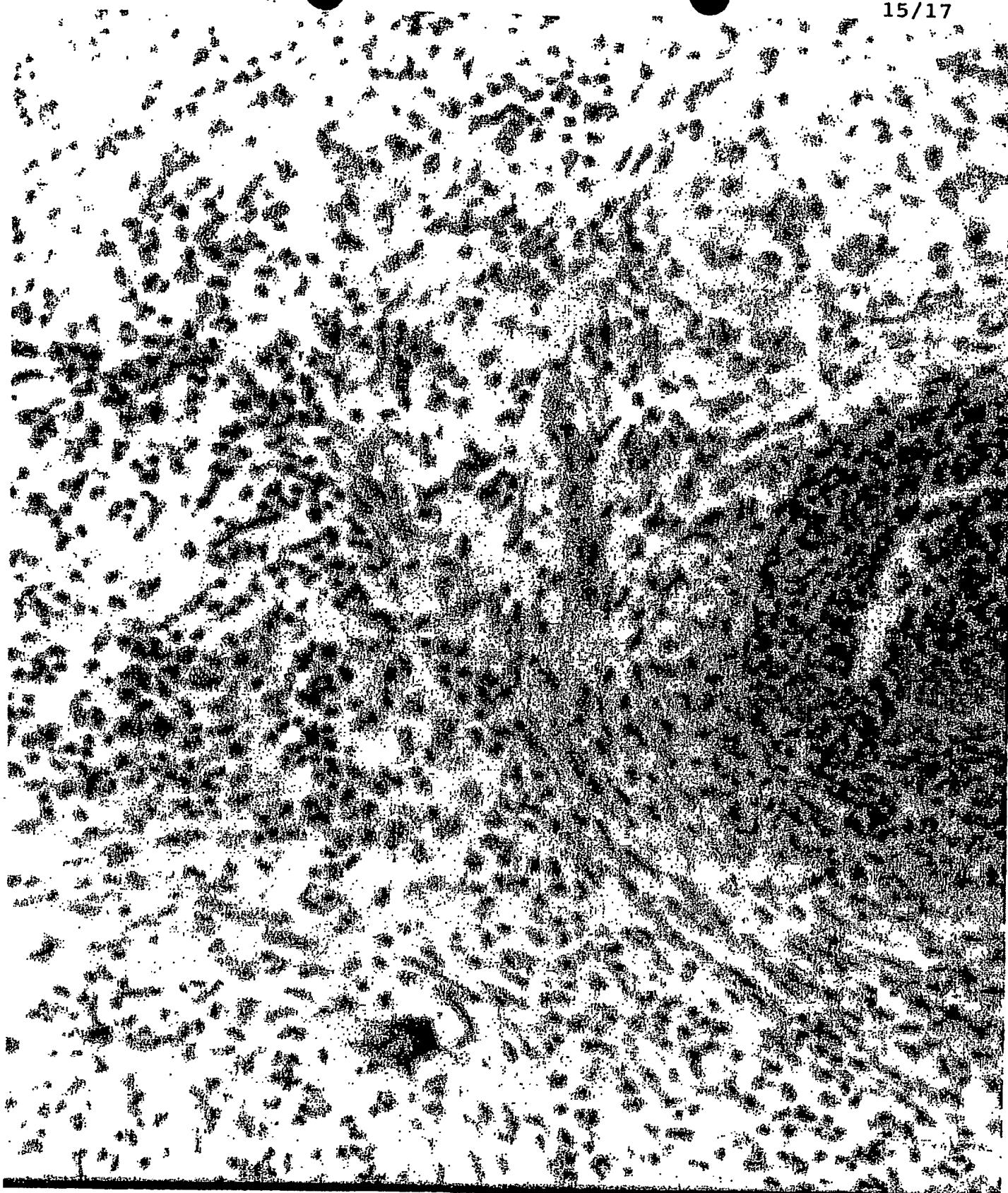
22. ábra

Pv2 26SP

KÖZZETETELI PÉLDANY

75.153/Lzs

15/17



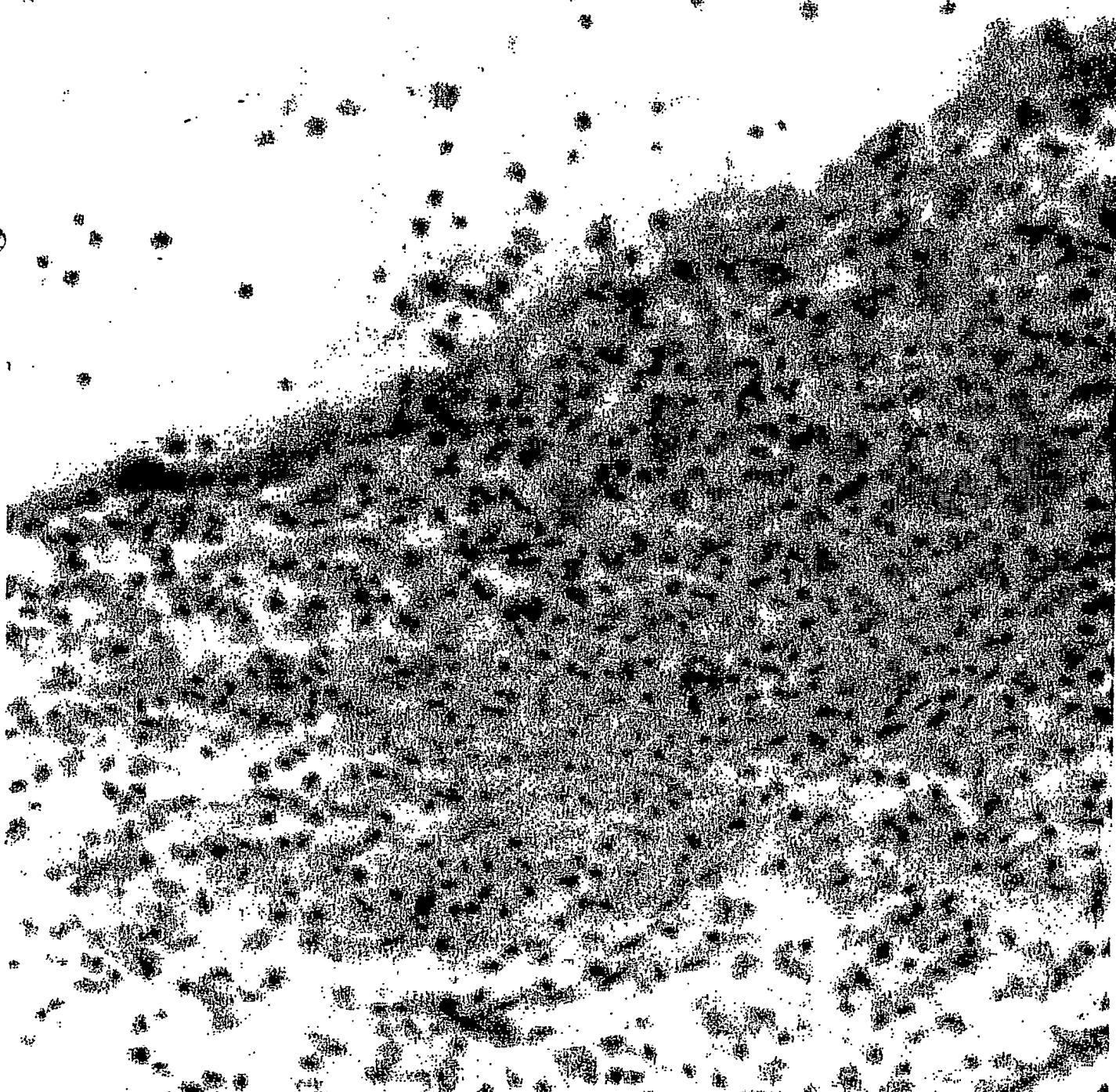
23. ábra

F02 261.P

75.153/LZs

16/17

ROZZÉTÉTELI PÉLDÁNY



24. ábra

102 36-37

ÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

75.153/Lzs

17/17



25. ábra

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS**
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.